塩ストレスがイチゴに及ぼす影響について

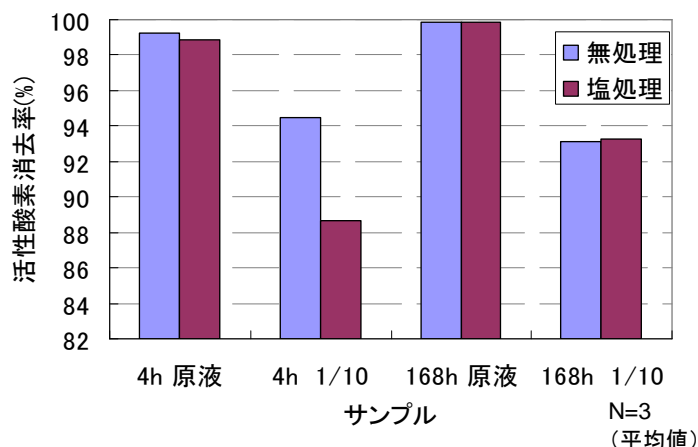
ご協力：金沢工業大学　情報フロンティア学部　生命情報学科
小木美恵子先生　中村和正様

【研究目的】

植物は根で地面に固定されているため、簡単に生育環境を変えることができない。静岡の沿岸では、車が潮風で錆びるほど潮風が強いのだが、塩ストレスに弱いとされているイチゴは、その悪環境の中で育っている。そこで、イチゴは、環境適応能力特に塩ストレスに対する耐性を獲得しているのではないかと仮定し、活性酸素消去能の違いについて検討した。

【サンプル調整および測定方法】

①イチゴの葉を1枚採取（約0.5g）
②葉を乳鉢ですりつぶしビーカーに移す
③5mlのメタノールを加え、20分間静置
④ろ過により抽出
塩ストレス（120mMの塩水200ml）をイチゴへ与え、実験開始時（4h後）と実験終盤時（168h後）の葉から上記方法でメタノール抽出したサンプルで抗酸化能測定を行った。
活性酸素消去率は、抗酸化能測定キットラジカルキャッチを用いて、相対評価することにより求めた。

【結果】

イチゴの葉には高い抗酸化能があることがわかった。
また、1/10希釈サンプルについて、塩処理4h後では抗酸化能が落ちているにも関わらず、168h後には無処理のものと同等の抗酸化能を有していることから、イチゴの葉は塩ストレスに対して活性酸素消去酵素や抗酸化物質を多く作ることで耐性を獲得したと考えられる。また、塩処理した葉は、葉が厚い、光沢があるなどの形態的変化も生じていた。
今後は、この耐性機構を追及していく予定。

【展望】

抗酸化能測定キットラジカルキャッチは、植物の品種改良にも役立つと考えられるストレス耐性の研究にも使用できる。

アロカ製ルミノメーターと試薬キットのご紹介

■生物化学発光測定装置

ルミネッセンスリーダーAccuFLEX Lumi400は、
生物・化学発光を測定する装置です。

●食品などの抗酸化能測定に最適
●ルシフェラーゼアッセイ用の測定モード搭載
●生菌数を調べる際のATP測定
●加温機能、撹拌機能など便利な機能を搭載
●測定容器もさまざまなものに対応

操作しやすいタッチパネル

■抗酸化能測定キット

ラジカルキャッチ

食品などの機能性のひとつ、
抗酸化能を測定する測定キットです。

●化学発光法を利用した高感度な測定
●キット内の試薬を分注するだけの簡単手順
●水溶性・脂溶性サンプルなどに対応
●データの再現性が良く、保存も簡単

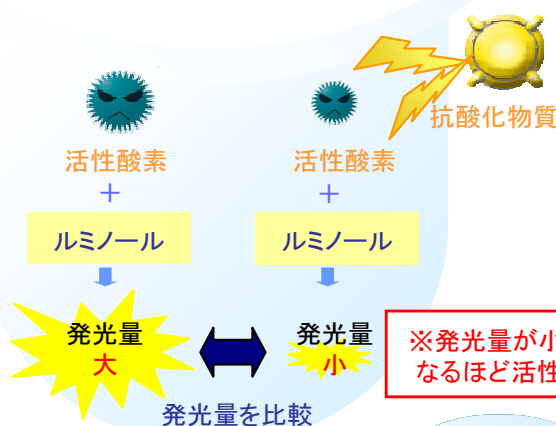
キットの構成 1キット(100テスト分)		
試薬A	5mL	1本
試薬B	5mL	1本
試薬C	1．5mL	1本
精製水	10mL	3本
付属品	取扱説明書	1部
保存方法	:冷蔵保存 推奨(2～8℃)	
使用期限	:製造後1年	

【抗酸化能測定原理】

フェントン反応によって発生した活性酸素を、
化学発光法を利用して測定します。

※フェントン反応とは、金属イオンと過酸化水素によって、
ヒドロキシルラジカルを生成する反応のことです。
人間の体内でも見られる反応です。

a) $Co_2^+ + H_2O_2 \rightarrow Co_3^+ + HO\cdot + HO^-$
b) Luminol - + HO・ → light (430nm)
c) $O2^{\cdot -} + Co_3^+ \rightarrow O_2 + Co_2^+$

※発光量が小さくなれば
なるほど活性酸素減少

【測定手順】

手順①	手順②	手順③	手順④	手順⑤
試薬C10μLを精製水10mLに加えて希釈します。 1000倍希釈 【試薬C】【精製水】	測定容器に試薬A・Bを各50μL、サンプルを20μL分注します。 【試薬A】【試薬B】【サンプル】	AccuFLEX Lumi400の測定室に測定容器をセットして、37℃、5分でプレインキュベーションを行います。	5分後に測定容器を取り出し、手順①の試薬Cの希釈液を50μL分注します。	AccuFLEX Lumi400の測定室に測定容器をセットして発光量を測定します。

日立アロカメディカル株式会社
本社 〒181-8622 東京都三鷹市牟礼6丁目22番1号
医用分析システム営業部 (0422)45-5576
www.hitachi-aloka.co.jp